

Penggunaan Response Surface Methode untuk Optimasi Kandungan Fenol dan Aktivitas Antioksidan pada Proses Pencampuran Stevia-Teh Hijau

by Tarsisius Dwi Wibawa Budianta

Submission date: 18-Apr-2022 07:29PM (UTC+0700)

Submission ID: 1813459027

File name: ada_proses_pencampuran_Stevia-teh_Hijau_162196529-compressed.pdf (4.05M)

Word count: 2651

Character count: 15173



Penggunaan *Response Surface Methode* untuk Optimasi Kandungan Fenol dan Aktivitas Antioksidan pada Proses Pencampuran Stevia-Teh Hijau

[Phenol Contents and Antioxidant Activity Optimization Using Response Surface Methode in the Stevia - Green Tea Mixing Process]

Tarsisius Dwi Wibawa Budianta dan Adrianus Rulianto Utomo

Prodi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya,

Jl Dinoyo 42-44, Surabaya, 60265

E-mail: tdwiwibawabudianta@yahoo.com

Abstract— Optimization phenol contents and antioxidant activity in the stevia-green tea mixing process was investigated in this study. The experimental design for optimization phenol contents and antioxidant activity in the stevia- green tea mixing process was carried out using the central composite of Response Surface Methode (RSM). The mixed stevia-green tea product were steeped with the boiled water ($93 \pm 2^\circ\text{C}$, 3 ± 0.5 minutes). The steeped water were analyzed for total phenol contents and antioxidant activity. The results shows that the optimum conditions of the product containing the highest scavenging free radical DPPH were stevia 3% (w/v) and green tea 1% (w/v).

Keywords—optimization, stevia, green tea, RSM, phenol.

I. PENDAHULUAN

Teh (*Camellia sinensis*) merupakan salah satu tumbuhan yang dikenal oleh masyarakat dunia. Teh dapat dikonsumsi dengan cara diseduh bagian daunnya. Minuman teh ini sangat disukai oleh masyarakat dunia karena memiliki rasa dan aroma yang khas serta memberikan efek yang baik bagi kesehatan tubuh (Ljubuncic, 2005). Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa mengkonsumsi teh secara teratur dapat mereduksi dan mencegah penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, hipertensi, diabetes, kanker, dan sebagainya (Kris *et al.*, 2002). Senyawa yang berperan untuk mencegah penyakit degeneratif adalah senyawa antioksidan dengan menangkal radikal bebas dan menghambat proses oksidasi. Senyawa antioksidan dapat berupa vitamin E, vitamin C, flavonoid, polifenol, dan karotenoid. Salah satu jenis teh yang memiliki kandungan senyawa

antioksidan tertinggi adalah teh hijau (Khalakkannan and Prince, 2006).

Teh hijau adalah teh yang dalam proses pembuatannya tidak mengalami fermentasi. Teh hijau dapat diperoleh melalui pemanasan (udara panas) dan penguapan. Daun teh hijau mengandung berbagai senyawa-senyawa kompleks seperti asam-asam amino, karbohidrat, lemak, vitamin, kafein, zat pigmen, senyawa volatil, mineral, dan elemen-elemen lain (Okai *et al.*, 2000). Minuman teh hijau biasa dikonsumsi dengan penambahan pemanis. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan (Menkes) RI No. 235, pemanis termasuk ke dalam bahan tambahan kimia. Pemanis berfungsi untuk meningkatkan cita rasa dan aroma, memperbaiki sifat fisik, sebagai pengawet, memperbaiki sifat-sifat kimia, sekaligus sebagai sumber kalori bagi tubuh. Pemanis yang umumnya digunakan adalah pemanis alami (sukrosa) dan pemanis buatan (sakarín dan

3 kلامat). Menurut Abou-Arab *et al.*, (2010), pemanis alami (sukrosa) memiliki kelemahan yaitu nilai kalori yang tinggi dan apabila dikonsumsi secara berlebihan dapat menyebabkan obesitas atau kegemukan serta memicu beberapa penyakit salah satunya diabetes. Sedangkan pemanis buatan memiliki kelemahan yaitu menimbulkan efek karsinogenik apabila dikonsumsi secara berlebihan atau tidak sesuai dengan ADI (*Acceptable Daily Intake*). Oleh karena itu, penggunaan pemanis alami stevia dapat digunakan untuk menggantikan sukrosa maupun pemanis buatan. Menurut Jaroslav *et al.* (2006) dalam Abou-Arab *et al.* (2010), hasil studi toksikologi menyatakan bahwa steviosida dalam stevia tidak memiliki reaksi mutagenik, teratogenik, karsinogenik, dan reaksi alergi sehingga stevia dapat digunakan untuk menggantikan sukrosa bagi penderita diabetes melitus, obesitas, hipertensi, dan *caries prevention*.

Stevia rebaudiana Bertoni M adalah sumber bahan pemanis alami dan rendah kalori. Komponen utama yang terkandung dalam stevia adalah steviol glikosida dengan kadar 4–20% *dry weight* dan memberikan sensasi rasa manis 200–450 kali dibandingkan sukrosa (Starrat *et al.*, 2002; Ghanta *et al.*, 2007 dalam Moryson dan Michalowska, 2015). Menurut Komissarenko *et al.* (1994) dalam Moryson dan Michalowska (2015), ekstrak daun stevia mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, klorofil dan xantofil larut air, *hydroxycinnamic acid*, oligosakarida, gula bebas, asam amino, lipid, minyak, dan mineral. Tadhani *et al.* (2007) dalam Moryson dan Michalowska (2015) menyimpulkan bahwa ekstrak dari daun stevia menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi dan sumber antioksidan yang baik.

Teh hijau yang digunakan berbentuk daun kering dan stevia berbentuk bubuk. Produk dengan kadar air rendah (kering) dipilih karena memiliki umur simpan yang lebih panjang. Perbandingan antara teh hijau dan pemanis stevia dalam pembuatan produk minuman dapat mempengaruhi sifat fisikokimia dan organoleptik produk akhir. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian fisikokimia dan organoleptik minuman teh hijau dengan penambahan pemanis stevia. Tingkat penambahan bubuk daun *Stevia rebaudiana* pada minuman teh hijau telah dilakukan uji pendahuluan dengan uji *threshold*. Uji pendahuluan dilakukan dengan menambahkan

bubuk daun stevia sebesar 0,07%, 0,15%, 0,23%, 0,31%, 0,39% (b/v) terhadap 0,5% (b/v) teh hijau. Hasil uji *threshold* menunjukkan bahwa *absolute threshold* (konsentrasi terendah stevia dalam minuman teh hijau dapat dideteksi oleh 50% panelis) pada konsentrasi 0,13% (b/v) dan *recognition threshold* (konsentrasi stevia yang dapat dirasakan oleh 100% panelis) pada konsentrasi 0,21% (b/v) dengan jarak interval 0,08% setiap perlakuan. Untuk mendapatkan sifat fisikokimia terbaik dan aktivitas antioksidan tertinggi dari kombinasi perlakuan stevia dan teh hijau, maka diperlukan suatu upaya optimasi, mencari hasil yang optimum. Metode yang ditawarkan adalah menggunakan *response surface methode* yang disediakan dalam aplikasi Minitab 16.

II. METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penelitian, Laboratorium Analisa Pangan, Laboratorium Pengendalian Mutu Pangan dan pengujian Sensoris, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, antara Februari sampai dengan September 2016.

A. Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini dibedakan menjadi 2, yaitu bahan pembuatan minuman stevia-teh hijau dan bahan kimia. Bahan pembuatan minuman stevia-teh hijau. Stevia bubuk kering diperoleh dari pemasok di Jawa Tengah yang ditawarkan secara *on-line*, sedangkan teh hijau diperoleh dari gerai cafe suatu perkebunan teh di Surabaya. Bahan kimia untuk analisis terdiri dari: asam klorida, asam sulfat, kalium persulfat, heksana, kalium sulfat, merkuri oksida, batu didih, akuades, asam borat, metilen merah, metilen biru, natrium hidroksida, natrium thiosulfat, folin ciocalteus fenol, natrium karbonat, asam gallat, fenolptalein, katekin, natrium nitrit, aluminium klorida, 1,1-difenil-2-pikrilhidrasil (DPPH), metanol, buffer fosfat pH 6,6, asam kloroasetat, ferri klorida, kalium ferrisianida, ferro amonium sulfat, ferozin, agen Nelson- Samogyi, asam askorbat, butil hidroksi anisol (BHA), etilen diamin tetra acetic acid (EDTA), dan alfa tokoferol. Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : *freezer*, oven, *muffle furnace*, spektrofotometer UV-Vis, Spektrofotometer serapan atom, seperangkat alat Soxhlet, *rotary*

evaporator, Kjeldahl, timbangan analitis, sentrifuse, densitometer, pH meter, refraktometer, vortex mixer, kolorimeter, seperangkat alat gelas, kain saring, aluminium foil, kertas saring kasar, kertas saring Whatmann, dan paper lens.

B. Prosedur Penelitian

Dari percobaan pendahuluan untuk pengujian threshold diperoleh konsentrasi terendah untuk *absolute threshold* adalah 0.13% stevia dan untuk *difference threshold* adalah 0.5%. Konsentrasi terendah untuk faktor stevia adalah 0.13% dan tertinggi adalah 0.3%, sedangkan untuk teh hijau konsentrasi terendah adalah 1% dan konsentrasi tertinggi adalah 5%. Data tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam program Minitab 16 pada *Design of Experiment* menggunakan *Response Surface Methode*, kemudian diperoleh desain Central composite dengan 2 faktor dan 1 replikasi, dengan total run 13, dengan axial point 4, dan alfa 1.414421 dan perlakuan (*run order*) seperti pada tabel berikut:

TABEL I
DESAIN EKSPERIMEN RSM 2 FAKTOR

Run Order	Pt Type	Blocks	Konsentrasi	
			Stevia	Teh Hijau
1	-1	1	0,335208	3,00000
2	1	1	0,300000	1,00000
3	1	1	0,130000	5,00000
4	0	1	0,215000	3,00000
5	1	1	0,130000	1,00000
6	-1	1	0,215000	0,17157
7	0	1	0,215000	3,00000
8	1	1	0,300000	5,00000
9	0	1	0,215000	3,00000
10	0	1	0,215000	3,00000
11	-1	1	0,094792	3,00000
12	0	1	0,215000	3,00000
13	-1	1	0,215000	5,82843

Dari masing-masing *run order* dengan perbandingan konsentrasi stevia dan teh tersebut selanjutnya disiapkan campuran dengan berat yang sesuai. Dari campuran stevia – teh hijau tersebut selanjutnya dimasukkan ke kertas saring berupa kantong dengan ukuran 3 x 3 cm, dan diseduh dengan suhu $93 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 3 ± 0.5 menit. Seduhan selanjutnya diuji sesuai dengan tujuan penelitian yaitu uji kandungan total fenol dan aktivitas antioksidannya dengan metode sebagai berikut:

B.1. Kadar total fenol

Kadar total fenol dari larutan seduhan campuran stevia-teh hijau ditentukan dengan

metode spektrofotometri berdasarkan metode Kumar *et al.* (2008) dan Jayasri *et al.* (2009). Reagen Folin-Ciocalteus Fenol 1 mL diencerkan menjadi 20 mL dengan akuades selanjutnya ditambahkan 1 mL sampel (250 mg/mL) dan dikocok. Selanjutnya tambahkan 4 mL natrium karbonat (75g/L) dan 10 mL akuades dan dikocok. Campuran dibiarkan pada suhu kamar selama 2 jam. Lalu disentrifus 2000 g selama 5 menit dan absorban supernatan diukur pada λ 760 nm. Kurva ditentukan dengan larutan asam gallat. Hasil yang diperoleh dinyatakan dengan ekuivalen asam gallat (GAE).

B.2. Aktivitas antioksidan DPPH

Aktivitas antioksidan sampel larutan seduhan campuran stevia-teh hijau diukur berdasarkan kemampuan mendonorkan atom hidrogen atau menangkap radikal bebas dengan melakukan pengukuran kemampuan pemucatan larutan metanol yang berwarna ungu dari radikal bebas yang stabil DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrasil) berdasarkan metode Aichi *et al.* (2006) termodifikasi. 0,1 mL atau 1 mg sampel pada berbagai variasi konsentrasi dalam pelarut metanol ditambahkan 2,9 mL larutan radikal DPPH (60 μM). Ketika radikal DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan maka kemampuan senyawa ini mendonorkan hidrogen akan berkurang, hasil penurunan kemampuannya dapat terukur absorbansinya pada λ 517 nm.

Sebagai data pendukung diuji juga sifat fisikokimia meliputi pH dan warna.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari uji sifat fisikokimia sebagai data pendukung diketahui bahwa nilai derajat keasaman (pH) dari sampel campuran stevia-teh hijau berkisar antara 5,57 hingga 5,84 dengan simpangan antara 0,08 hingga 0,28. Dari data terlihat bahwa campuran bersifat agak asam. Bila dilihat dari teh hijau yang diuji diketahui bahwa derajat keasamannya adalah 5.45 ± 0.08 sedangkan untuk stevia dengan nilai 5.93 ± 0.20 . Sedangkan nilai warna adalah kuning kehijauan dengan nilai $L = a = b =$

Adapun hasil analisis total fenol dan aktivitas antioksidan kemampuan menangkap radikal bebas DPPH adalah sebagai berikut:

A. Total Fenol

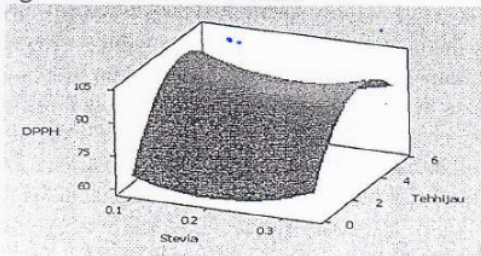
Dari uji kadar total fenol dari larutan seduhan campuran stevia-teh hijau⁴ ditentukan dengan metode spektrofotometri berdasarkan metode Kumar *et al.* (2008) dan Jayasri *et al.* (2009) diperoleh hasil bahwa dari ketiga belas perlakuan tersebut diperoleh nilai terendah 0.4190 ± 0.2461 mg (GAE)/100 ml sampel, dan tertinggi adalah $4.7014 \pm 0,2733$ mg (GAE)/100 ml sampel. Sedangkan untuk stevia saja adalah 0.2032 ± 0.007 mg (GAE)/100 ml sampel dan untuk teh hijau saja adalah 3.622 ± 0.232 mg (GAE)/100 ml sampel.

B. Aktivitas Antioksidan: kemampuan menangkal radikal bebas DPPH

Hasil analisis aktivitas antioksidan terhadap sampel larutan seduhan campuran stevia-teh hijau yang diukur berdasarkan kemampuan mendonorkan atom hidrogen atau menangkap radikal bebas dengan melakukan pengukuran kemampuan pemucatan larutan metanol yang berwarna ungu dari radikal bebas yang stabil DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrasil) berdasarkan metode Aicha *et al.* (2006) termodifikasi, diperoleh nilai terendah adalah $40,3124 \pm 2,9737$ dan tertinggi adalah $94,3181 \pm 0,8381$. Sedangkan untuk seduhan stevia saja adalah $91,2325 \pm 0,9077$; dan untuk seduhan teh saja adalah $16,0926 \pm 8,9241$.

C. Uji Optimasi menggunakan RSM

Dari uji menggunakan data pada Tabel 1. di atas dengan hasil aktivitas antioksidannya maka dicari nilai persamaan yang memberikan nilai paling optimal, melalui uji *surface plot* sebagaimana Gambar 1. berikut:



Gambar 1. *Surface Plot* Untuk Kemampuan menangkal Radikal bebas DPPH dari campuran Stevia-teh Hijau.

Dari gambar tersebut terlihat bahwa nilai DPPH tergantung pada nilai konsentrasi teh hijau, sedangkan nilai DPPH kelihatannya tidak terpengaruh oleh konsentrasi stevianya. Bahkan

tidak nampak interaksi antara kedua faktor tersebut. Dari uji anavanya terbukti sebagai berikut:

TABEL 2
HASIL ANALYSIS OF VARIANCE UNTUK DPPH

Analysis of Variance for DPPH						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	5	1489.34	1489.34	297.867	1.97	0.201
Linear	2	595.82	857.50	428.750	2.84	0.125
Stevia	1	0.00	59.97	59.973	0.40	0.549
Tehhijau	1	595.82	572.69	572.690	3.79	0.093
Square	2	890.27	890.27	445.136	2.94	0.118
Stevia*Stevia	1	163.32	83.79	83.787	0.55	0.481
Tehhijau*Tehhijau	1	726.96	726.96	726.957	4.81	0.064
Interaction	1	3.24	3.24	3.244	0.02	0.888
Stevia*Tehhijau	1	3.24	3.24	3.244	0.02	0.888
Residual Error	7	1058.41	1058.41	151.201		
Lack-of-Fit	3	1057.83	1057.83	352.609	2430.36	0.000
Pure Error	4	0.58	0.58	0.145		
Total	12	2547.75				

Dari tabel tersebut di atas regresi yang bisa diterima adalah dengan adanya pengaruh utama tunggal konsentrasi teh hijau. Estimasi persamaan regresi yang dapat diterima adalah:

TABEL 3
ESTIMASI KOEFISIEN REGRESI UNTUK DPPH.

Estimated Regression Coefficients for DPPH				
Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	75.656	39.467	1.917	0.097
Stevia	-190.377	302.284	-0.630	0.549
Tehhijau	20.788	10.681	1.946	0.093
Stevia*Stevia	480.345	645.273	0.744	0.481
Tehhijau*Tehhijau	-2.556	1.166	-2.193	0.064
Stevia*Tehhijau	-5.297	36.166	-0.146	0.888

$R^2 = 12.2964$ PRESS = 7523.24
R-Sq = 58.46% R-Sq(pred) = 0.00% R-Sq(adj) = 28.78%

Dari estimasi persamaan di atas ternyata faktor tunggal yang berpengaruh adalah konsentrasi teh hijau, dengan mengikuti persamaan: $[dpph]=79.037-205.988[Stevia]+ 19.661[Tehhijau]$ dengan jenis persamaan adalah linier.

IV. KESIMPULAN

Dari percobaan yang telah dilaksanakan dapat disimpulkan bahwa total fenol dan aktivitas tertinggi dari proses pencampuran ini dipengaruhi oleh konsentrasi teh hijau, tidak ada pengaruh interaksi antara stevia dan teh hijau. Persamaan yang diperoleh bersifat linier. Nilai tertinggi aktivitas antioksidan menangkal radikal bebas DPPH adalah sebesar 94.3181 mg GAE/L sampel

pada perlakuan dengan berat teh hijau 1 g (1% berat/vol) dan stevia 3 g (3% berat/vol) yang diseduh dalam 100 ml air.

9 UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Pusat Penelitian Pangan dan Gizi (PPPG), Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah mendanai penelitian ini melalui kontrak Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Nomor: 285a/ WM01.5.2/N/2016 tanggal 29 Pebruari 2016

DAFTAR PUSTAKA

- Abou-Arab, A. E., A. Azza Abou-Arab, and M. F. Abu-Salem. 2010. Physico-chemical Assessment of Natural Sweeteners Steviosides Produced from *Stevia rebaudiana* Bertoni Plant, *African Journal of Food Science*. 4(5): 269-281.
- Aicha, N et al. 2006. *A Comparative Evaluation Of Mutagenic, Antimutagenic And Scavenging Radicals Activity Of Essential Oil From Pituranthos Chloranthus*. SIPAM.362-371.
- Ditjen Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia (RI), 1988. Peraturan Menteri Kesehatan (Menkes) RI no. 235 Menkes/Per/VI/79 tentang Bahan Tambahan Pangan, Jakarta.
- Kamalakkannan, N. and Prince P. S. M. 2006. Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 98: 97-103.
- Jayasri, MA, L Mathew, and A Radha. 2009. A Report on the Antioxidant Activity of Leaves and Rhizomes of *Costus pictus* D. Don. *IJIB* 5(1): 20-26.
- Kris-Etherton, P. M., Hecker K.D., Bonanome A., Coval S.M., et al. 2002. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medicine*. 113: 71S-88S
- Kumar S., Kumar D., Manjusha, K. Saroha, N. Singh, B. Vashishta. 2008. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Citrullus colocynthis* (L.) schrad. methanolic fruit extract. *Acta Pharmacology* 58 : 215-220.
- Ljubuncic, P. H. Azaizeh, I. Portnaya, 2005. Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine in Israel, *Journal of Ethnopharmacology*. 99 : 43- 47.
- Moryson, M. K. and A. G. Michalowska. 2015. Directions on the Use of Stevia Leaves (*Stevia Rebaudiana*) as an Additive in Food Products, *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment*. 14(1):5-13.
- Okai, K. H., M. Taniguchi, and Y. Okai. 2000. Potent Antioxidative Activity of Non-Polyphenolic Fraction of Green Tea (*Camellia Sinensis*) - Association with Pheophytins a and b, *Journal of the Sci.of Food and Agriculture*. 80:117-120.

Penggunaan Response Surface Methodode untuk Optimasi Kandungan Fenol dan Aktivitas Antioksidan pada Proses Pencampuran Stevia-Teh Hijau

ORIGINALITY REPORT

15%

SIMILARITY INDEX

15%

INTERNET SOURCES

2%

PUBLICATIONS

4%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	repository.ipb.ac.id Internet Source	4%
2	journal.wima.ac.id Internet Source	3%
3	repository.unpas.ac.id Internet Source	2%
4	eprints.undip.ac.id Internet Source	2%
5	www.scribd.com Internet Source	1%
6	pt.scribd.com Internet Source	1%
7	digital.library.txstate.edu Internet Source	<1%
8	lppm.ukwms.ac.id Internet Source	<1%

ojs3.unpatti.ac.id

9

Internet Source

<1 %

10

pearl.plymouth.ac.uk

Internet Source

<1 %

Exclude quotes On

Exclude matches < 10 words

Exclude bibliography On